

66-

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

(12) Offenlegungsschrift
(10) DE 197 15 149 A 1

(51) Int. Cl.⁶:
A 61 K 38/17
G 01 N 33/68

DE 197 15 149 A 1

(21) Aktenzeichen: 197 15 149.3
(22) Anmeldetag: 11. 4. 97
(43) Offenlegungstag: 15. 10. 98

- (71) Anmelder:
SYMBIOTEC Gesellschaft zur Forschung und Entwicklung auf dem Gebiet der Biotechnologie GmbH, 35745 Herborn, DE
- (74) Vertreter:
Pätzold, H., Dipl.-Ing. Dr.-Ing., Pat.-Anw., 82166 Gräfelfing

- (72) Erfinder:
Zeppezauer, Michael, Dr., 66133 Saarbrücken, DE; Leinenbach, Hans-Peter, Dr., 66636 Tholey, DE; Class, Reiner, Dr., Drexel Hill, Pa., US; Fassbender, Cordula, Dr., 50823 Köln, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

- (54) Krebstherapeutikum und Diagnose zur Charakterisierung von Krebszellen mit individueller Eigenschaft
- (57) Die Erfindung betrifft ein Krebstherapeutikum zur Membranschädigung und Abtötung von Krebszellen, insbesondere Leukämiezellen, mit membranständigen Proteinaggregaten, die mehrere Core-Histone oder weitgehend Core-ähnliche Histone und/oder deren Teile enthalten, wobei das Therapeutikum wenigstens ein reines Histon oder dessen wirksamen Sequenzabschnitt enthält, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus einem Histon H1, den reinen H1-Subtypen, H2A, H2B, H2A:H2B-Dimer, H3 und H4.

DE 197 15 149 A 1

Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Krebstherapeutikum auf der Basis von Histonen.

- In der Literaturstelle Am. J. Clin. Oncol. (CCT) 19 (5) 1996, S. 552-531 ist die Wirkung von Histon H1 auf Krebszellen dadurch erklärt, daß Krebszellen, welche von Histon H1 abgetötet werden, in ihrer Zellmembran ein sogenanntes Rezeptorprotein besitzen, welche das veräbreichte Histon H1 binden kann. Das Rezeptorprotein wurde durch Affinitätschromatographie an immobilisierten Histon H1 isoliert. Nach Ergebnissen der SDS-PAGE Elektrophoresetechnik besitzt das Rezeptorprotein eine Molmasse im Bereich von 33 000 DA (33 k Da) \pm 2000 Da.

- Die Bindung von H1 mit dem membranständigen Rezeptorprotein führt zu einer Zerstörung der Membranintegrität, so daß lösliche Zellbestandteile, wie gelöste Proteine, Ionen und andere Stoffe unkontrolliert aus der Krebszelle nach außen entweichen können und die Zelle dadurch abstirbt.

- Die Erfindung geht von der Überlegung aus, daß Tumorzellen unterschiedlichen histologischen Ursprungs, z. B. Leukämien, Lymphomen, Sarkom, Carcinenom, Melanom u. a. besondere individuelle Eigenschaften besitzen und daß bei näherer Kenntnis dieser individuellen Eigenschaften diese einen Ansatz für eine neue wirksame Therapie bieten können. Das vorstehende Rezeptorprotein, das nicht charakteristisch ist für einen bestimmten Zelltyp könnte sich als eine solche individuelle Eigenschaft von Krebszellen heraussstellen, die einer gezielten Therapie zugänglich ist.

Aufgabe der Erfindung ist es, das vorstehende Rezeptorprotein näher zu untersuchen, um danach eine Lehre zur therapeutischen Behandlung von individuellen Krebszellen mit solchen Rezeptorproteinen zu erhalten.

- Die Erfindung umfaßt damit auch eine Diagnose zur Erkennung von Krebszellen, die als individuelle Eigenschaft solche Rezeptoren enthalten, so daß der Erfolg der neuen Lehre zur therapeutischen Behandlung solcher individueller Krebszellen auch vorherbestimbar ist. Dies bedeutet, daß die Krebszellen nach Maßgabe des Erfolges einer Behandlung mit erfindungsgemäßem Therapeutikum auch klassifizierbar sind.

- Der Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde, daß das vorstehende Rezeptorprotein in der Membran von individuellen Krebszellen mehrere Core-Histone oder coreähnliche Histone oder Teile hiervon aufweist oder enthält, die eine Bindung oder Vernetzung mit zugeführten Histonen, als Therapeutikum zur Abtötung solcher individueller Krebszellen oder als diagnostisches Mittel zur Erkennung von Krebszellen mit solchen individuellen Eigenschaften ermöglichen.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß mit den Merkmalen des Anspruches 1 und 24 gelöst. Vortreffliche Ausführungen ergeben sich aus den Merkmalen der Unteransprüche und der nachfolgenden Beschreibung.

- Es wurde zunächst das vorstehend erwähnte Rezeptorprotein in der Membran von individuellen Krebszellen charakterisiert.

Eine massenspektrometrische Analyse mittels der MALDI-MS Technik (matrix-assisted faser desorption/ionization mass spectrometry) ergab überraschenderweise, daß die elektrophoretisch erhaltene Proteinbande drei Proteine mit den Molmassen 11,2, 13,7, und 15 kDa enthielt.

Im Einzelnen ergaben sich folgende Mittelwerte:

- 35 11 175 \pm 40 Da
13 730 \pm 40 Da und
15 035 \pm 80 Da.

Die Mittelwerte berechnen sich aus einfach- und doppelt geladenen Molekülionensignalen und vier bis sechs Summenspektren, die von der untersuchten Probe aufgenommen werden.

- 40 Im Vergleich zu den vorstehenden drei Molmassen der Polypeptide des Rezeptors weisen die nachstehenden humanen Histonsequenzen folgende Molmassen auf:

H4 11 282 Da
H2B 13 774 Da
H3 15 324 Da und
45 H2 14 004 Da.

Die Sequenzanalyse mittels automatisiertem Edman-Abbau identifizierte eine Peptidsequenz, welche dem Abschnitt 23-59 des humanen Hists H4 entspricht, sich aber in den Positionen 23 und 35 unterscheidet, was einer Homologie von 97,2% bezogen auf die bekannte Sequenz des Hists H4 in gesunden Zellen entspricht.

- Diese Befunde lassen den Schluß zu, daß das besagte Rezeptorprotein aus Proteinen besteht oder solche Proteine enthält, die den Histon H4, H2B und H3 zugeordnet werden können oder ihnen sehr ähnlich sind. Ihr Vorkommen in der Membran von individuellen Krebszellen ist mit großer Wahrscheinlichkeit auf die tumorbedingte Entartung zurückzuführen, desgleichen ihre mengenmäßige Zusammensetzung und möglichen Strukturunterschiede zu den im Nucleosom befindlichen Histonen.

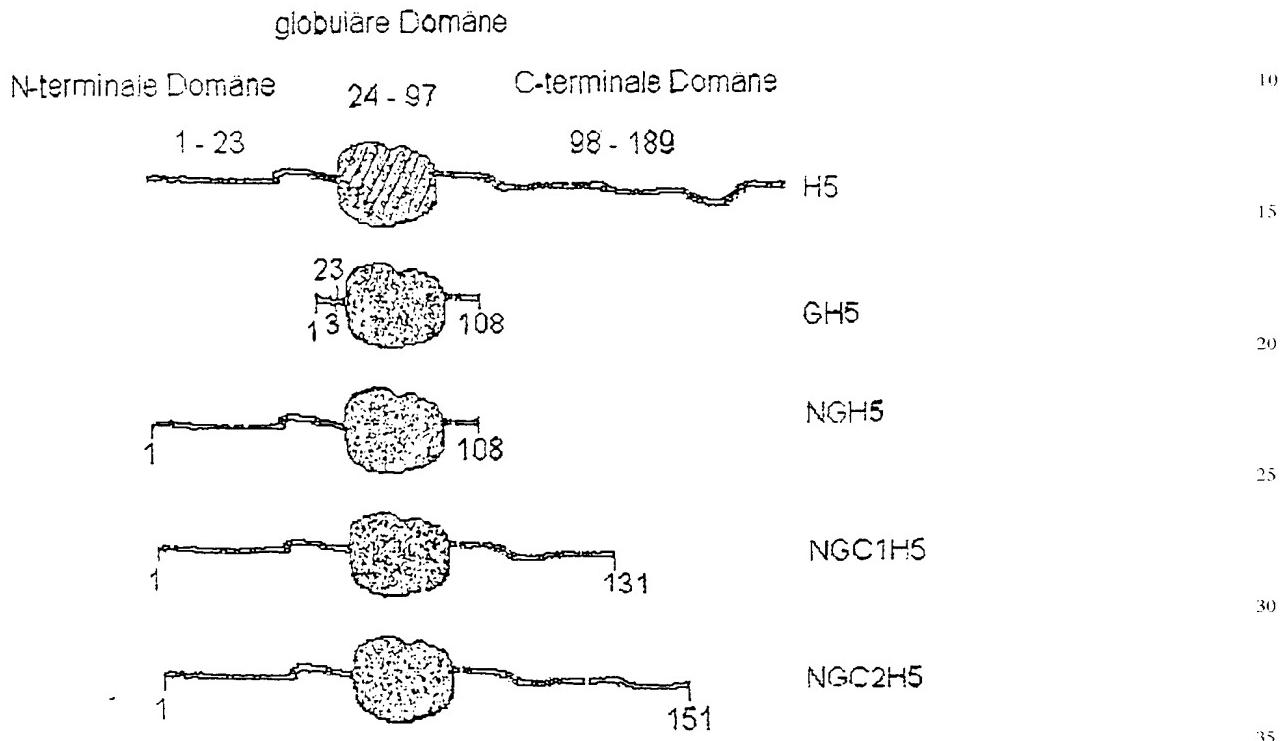
- Nach der Erfindung lassen sich die auf der Zellmembran von Krebszellen in vergleichsweiser hoher Konzentration vorkommenden Histone der Klassen H2, H3 und H4 (die sog. Core-Histone) durch äußere Zugabe von Histon, insbesondere Histon H1- oder wirksamen Sequenzteilen desselben zu größeren Aggregaten vernetzen, wodurch die Membranintegrität zerstört wird und die Krebszellen abgetötet werden.

- Es ist bekannt, daß die Histon H1-Moleküle die zu den sog. Nucleosomen organisierten Aggregate der Core-Histone weiter verknüpfen können, wodurch die kondensierte Form des Chromatins entsteht. Dazu sind weitgehend intakte H1-Moleküle notwendig, welche einen kompakt gefalteten Mittelteil (den "globulären" Teil) und die angeschlossenen flexiblen, N- und C-terminalen Domänen aufweisen.

Aus dieser Erkenntnis ließ sich erfindungsgemäß eine Methode ableiten, den zytotoxisch wirksamen Bereich des Histon H1 Moleküls zu ermitteln.

- Hierzu wurden in Zytotoxizitätsstudien als wirksame Substanzen teils das rekombinant gewonnene Histon H5 aus Hühnererythrozyten eingesetzt, welches eine erythrozytenspezifische Variante des H1 darstellt. Teils wurden Fragmente dieses Hists eingesetzt, bei welchen entweder beide der terminalen Domänen stark gekürzt wurden, oder die C-terminalen Domäne sukzessive verkürzt wurde. Diese Fragmente und ihre gentechnische Herstellung wurden von Gerchman et. al. in Protein Expression & Purification, 5 (1994), Seiten 242-251 beschrieben.

Die nachstehende Abbildung zeigt die verwendeten H5 Fragmente und ihren strukturellen Aufbau und zwar das vollständige Molekül H5, im wesentlichen nur seinen globulären Abschnitt (GH5), den globulären Abschnitt in Verbindung mit der N-terminalen Domäne (NGH5), den globulären Abschnitt in Verbindung mit der N-terminalen Domäne und dem C-terminalen Abschnitt 98-131 (NGC1H5) und schließlich den globulären Abschnitt in Verbindung mit der N-terminalen Domäne und dem C-terminalen Abschnitt 98-151 (NGC2H5). Alle eingesetzten Proteine und Kulturmedien waren auf Endotoxinfreiheit getestet.



Die vorstehende schematische Darstellung der 3 strukturellen Domänen des Moleküls Histon H5, GH5, NGH5, NGC1H5 und NGC2H5 bezeichnen rekombinant gewonnene Histonfragmente.

Zur Untersuchung möglicher Struktur-Funktionsbeziehungen der Wirkung von H1 aus Kalbsthymus auf entartete Zellen wurden Vergleichsexperimente mit den zur Verfügung stehenden, rekombinant gewonnenen Histonteilsequenzen aus H5 gemacht. Hier wurden die primären Leukämiezellen einer Patientin mit AML, die Leukämiezellen der Linie IM9 und die Lymphomzellen der Zelllinie OH77 getestet. In allen Ansätzen wirkte H1 in einer Konzentration von 250 µg/ml zytotoxisch. Die längeren Teilsequenzen NGC1H5 und NGC2H5 hatten im Fall der AML und der Lymphomzellen zu H1 vergleichbare, bei den Zellen der Zelllinie IM9 sogar stärkere Wirkung als Histon H1. Der globuläre Teil GH5 und die Teilsequenz NGH5 provozierten bei allen Zelltypen die geringsten, wachstumshemmenden Effekte. Die Zellen der Leukämiepatientin zeigten im Ansatz mit GH5 sogar eine geringe Proliferationszunahme. Die Teilsequenzen wurden jeweils in zu H1 äquimolare Mengen eingesetzt. Die Ergebnisse sind nachstehend in den Beispielen 1 bis 5 zusammengefaßt.

5

10

15

20

25

30

35

40

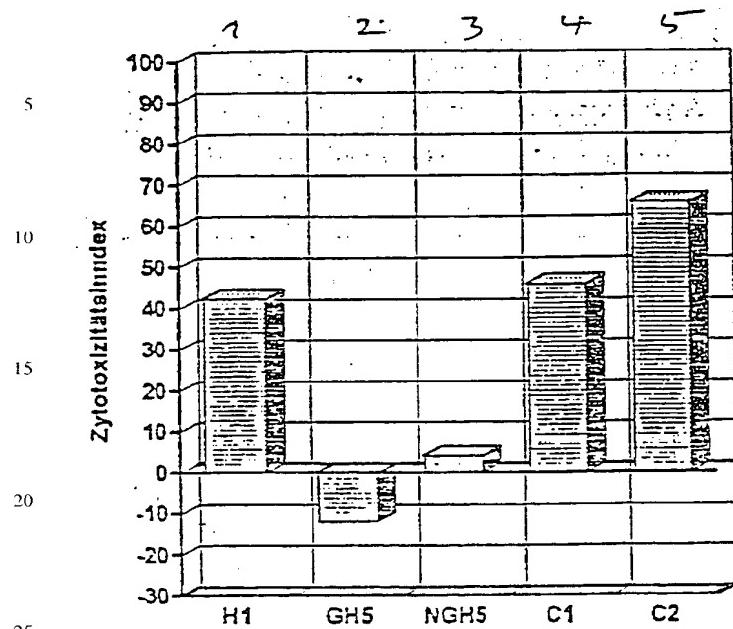
45

50

55

60

65

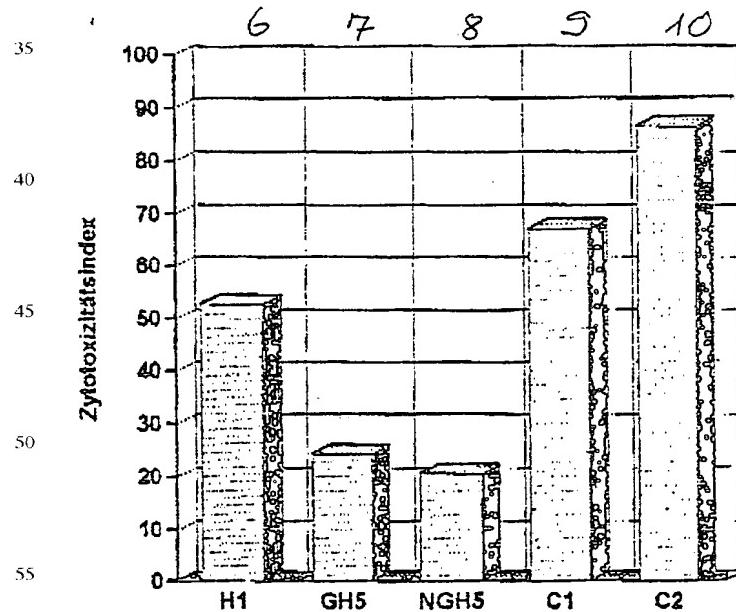


Das vorstehende Diagramm zeigt die Zytotoxizität von Histon H1 und Histonteilsequenzen für Primäre Leukämiezellen einer Patientin mit AML.

In den Beispielen 1 bis 5 wurden 1×10^6 Zellen/ml für 48 h unter Standardbedingungen wie folgt inkubiert:

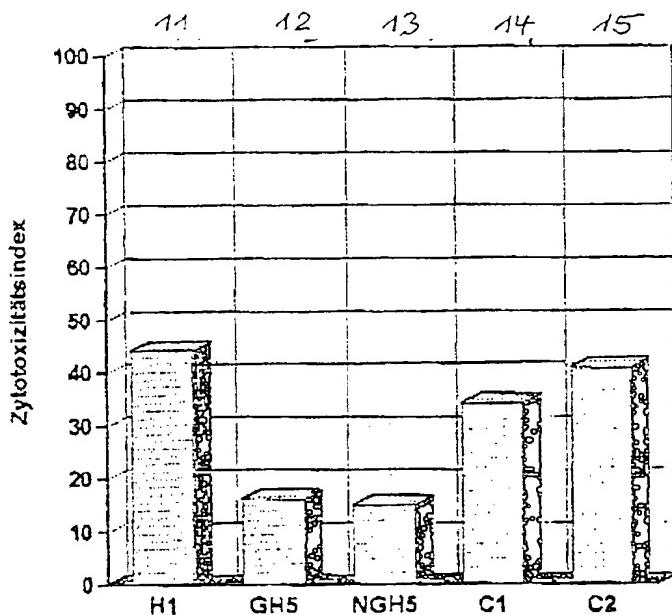
- 30 H1: Histon H1; rekombinante Teilsequenzen von Histon H5: GH5: Teilsequenz GH5; NGH5: Teilsequenz NGH5; C1: Teilsequenz NGC1H5; C2: Teilsequenz NGC2H5. H1, bzw. die Histonteilsequenzen wurden 12 μM eingesetzt. Die Vitalität der Zellen wurde mit der MTT-Methode bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus je 4 Parallelexperimenten.

Die nachstehenden Beispiele 6 bis 10



zeigen die Zytotoxizität von Histon H1 und Histonteilsequenzen für die Zellen einer myeloischen Leukämie der Zelllinie IM9.

- 60 Weiterhin zeigen die nachstehenden Beispiele 11 bis 15



die Zytotoxizität von Histon H1 und Histoneisequenzen für die Zellen eines Lymphomis der Zelllinie OII77.

In den Beispielen 6 bis 15 wurden 5×10^4 Zellen/ml für 48 h unter Standardbedingungen wie folgt inkubiert:
 H1: Histon H1; rekombinante Teilesequenzen von Histon H5; GH5: Teilesequenz GH5; NGH5: Teilesequenz NGH5; C1: Teilesequenz NGC1H5; C2: Teilesequenz NGC2H5. H1, bzw. die Histoneisequenzen wurden 12 μM eingesetzt. Die Vitalität der Zellen wurde mit der MTT-Methode bestimmt. Dargestellt sind die Mittelwerte aus je 4 Parallelexperimenten.

Aus den Beispielen geht hervor, daß die globuläre Domäne des H1 (oder H5) Moleküls GH5 eine nur geringe oder keine zytotoxische Wirkung aufweist (Cytotoxizitätsindex unter 20). Ähnliches gilt für das Fragment NGH5, bei welchem die C-terminale Domäne fast völlig fehlt. Wenn diese Domäne mit wenigstens den Resten 108–131 vertreten ist und die N terminale Domäne intakt ist (NGC1H5), dann liegt ein Fragment vor, dessen Wirksamkeit die des intakten Histonmoleküls erreichen oder übertreffen kann (Beispiele 4 und 9). Ein Gleiches gilt für das Fragment NGC2H5 in welchem nur noch 38 Aminosäuren der C-terminalen Domäne fehlen.

Ähnliche Beziehungen gelten entsprechend für Fragmente mit verkürzter N-terminaler Domäne und intakter C-Domäne.

Es liegt nahe, statt Histon H5 humane Subtypen von H1, z. B. insbesondere H1.1; H1.2; H1.3; H1.4 und H1.0 oder deren Teile erfundungsgemäß einzusetzen.

Die nachstehende Tabelle zeigt die genannten humanen H1-Subtypen mit ihren N- und C-terminalen Domänen jeweils in Verbindung mit der hier nicht genannten globulären Domäne zwischen den N- und C-terminalen Domänen sowie den notwendigen N- und C-terminalen Abschnitten, bei denen in Analogie zu den vorstehenden Ergebnissen mit dem Histon H5 vom Huhn zytotoxische Wirkung gegenüber Krebszellen mit membranständigen Core-Histonrezeptoren zu erwarten sind.

	N-termin.	C-termin.	notwendige.	notwendige.
	Domäne	Domäne	N-Domäne	C-Domäne
H 1.1.	1-40	118-214	ab 16;20-26	118-138
H 1.2.	1-38	105-212	ab 16;20-26	105-125
H 1.3.	1-39	117-220	ab 16;20-26	117-137
H 1.4.	1-38	116-218	ab 16;20-26	116-136
H 1.0.	1-25	99-193	ab 11;16-20	99-119

In der hier vorgenommenen Einteilung wurden als C- und N-terminale Bereiche diejenigen definiert, welche in ihren Sequenzen Prolin (P) enthalten, weil Prolin die Ausbildung von Helices verhindert, da es eine Streckung der Kette bewirkt.

Die Grenzen für die Domänen werden in der Literatur unterschiedlich angegeben. Beim H5 des Huhns zählen manche Autoren den N-Terminus von 1-18 und die globuläre Domäne 19-108, während Gerchman et. al. in der vorstehenden Literaturstelle diese als die Sequenz 24-96 definieren.

Zusammenfassend ergibt sich, daß die Proteine des individuellen Krebszellenrezeptors nach derzeitigen Erkenntnissen ein Aggregat aus den Core-Histonen H2B, H3 und H4 darstellt oder solche Histone oder coreähnliche Histone enthält. Ob auch DNA an der Membranoberfläche vorkommt kann derzeit nicht mit Bestimmtheit gesagt werden. Ausgeschlossen ist es nicht.

Die dem Kern des Nukleosoms angehörenden Histone (Core-Histone) sind durch nichtkovalente Kräfte stark aneinander gebunden und täuschen somit ein höheres Molekulargewicht vor. Auch auf der Zellmembran, in die sie durch eine tumorbedingte Fehlregulation gelangen, sind sie miteinander assoziiert.

Der Wirkungsmechanismus des erfundungsgemäßen Therapeutikums beruht auf einer weiteren Vernetzung der membranständigen Histone durch von außen angebotene Histone, insbesondere H1 und deren vernetzbaren Teile, so daß in der Zellmembran größere Aggregate entstehen, die Porencharakter besitzen oder zu Porenbildung in der Membran Anlaß geben.

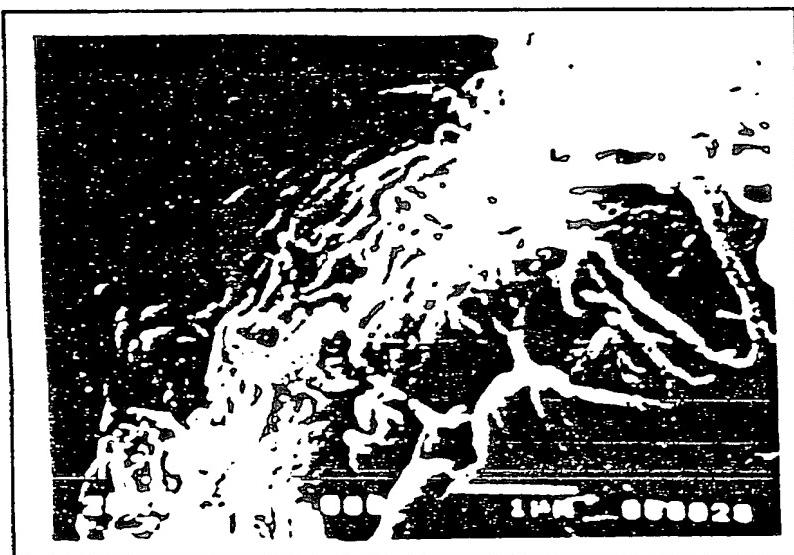
Die Wirksamkeit des erfundungsgemäßen Therapeutikums ist in den nachfolgenden Photografien A bis C verdeutlicht:

10



A

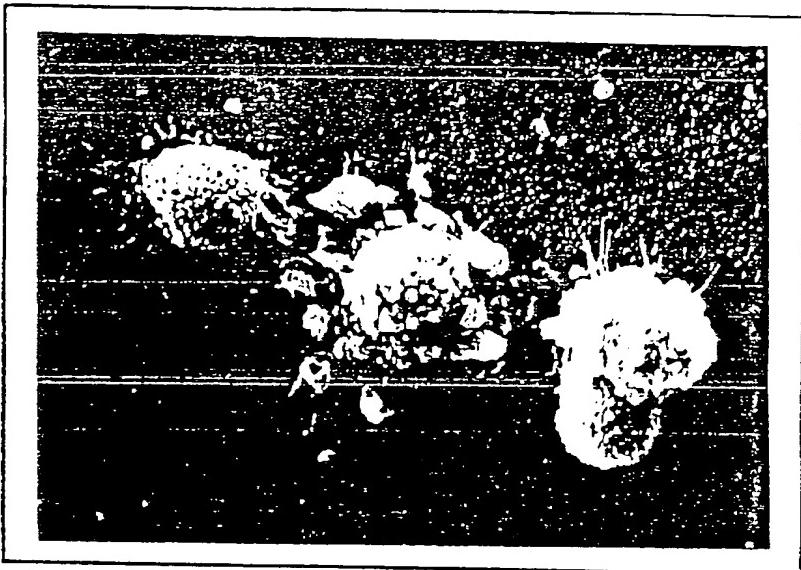
35



B

60

65



C

5

10

15

20

25



D

30

35

40

45

50

Die Photografie A zeigt unbehandelte Zellen der Lymphonzelllinie OH77 in 2000facher Vergrößerung, die Photografie B zeigt einen Ausschnitt aus A in 20 000facher Vergrößerung. Hierdurch wird die typische Oberflächenstruktur einer intakten lymphatischen Tumorzelle verdeutlicht. Die Photografie D zeigt in 20 000facher Vergrößerung eine drastische Veränderung dieses Zellausschnittes nach einer 12 Std. Einwirkzeit mit 200 µg/ml Histon H1. Es zeigt sich hier, das die Zellen zu einer kugeligen Gestalt kontrahieren, bis sie nach einer Behandlungszeit mit Histon H1 nach 24 Std. disintegrieren wie die Photografie C zeigt.

Verwendet wurde das zugesetzte reine Histon H1 in der oben angegebenen Konzentration jeweils in einem normalen Medium für die Kultivierung von Zellen, wie es in der eingangs genannten Literaturstelle beschrieben ist.

Die Erfindung umfaßt auch ein Verfahren zur Diagnose von individuellen Krebszellen mit den besagten Rezeptorproteinen in den Membranen dieser Krebszellen. Zur Diagnose werden erfundungsgemäß Histone, insbesondere H1 oder deren wirksamen Teile verwendet, die an das Rezeptorprotein binden, wodurch erstmals eine Klassifizierung von individuellen Krebszellen ermöglicht ist, die die besagten Rezeptoren aufweisen. Die hierbei zu verwendenden Diagnosetechniken gehören zum Stand der Technik.

55

60

65

Patentansprüche

- Krebstherapeutikum auf der Basis von reinen Histonen, insbesondere Histon H1, oder wirksamen Teilen zur Be-

DE 197 15 149 A 1

- handlung von Krebszellen mit individuellen zellmembranständigen Rezeptorproteinen bestehend aus oder enthaltend verschiedene aggregierte Histone oder histonähnliche Polypeptide und/oder deren Teilen.
2. Therapeutikum nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es in der Membran der Krebszelle mit einem Rezeptor reagiert, das wenigstens drei verschiedene Polypeptide enthält, die einzelnen Core-Histonen oder Teilen hier-von zuzuordnen sind.
- 5 3. Therapeutikum nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die drei verschiedenen Molmassen im Bereich von 11 kDa, 14 kDa und 15 kDa, insbesondere 11 175 + 40 Da, 17 730 + 40 Da und 15 035 + 80 Da liegen.
- 10 4. Therapeutikum nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Rezeptorprotein eine Peptidsequenz enthält, welche mit einer Homologie von über 90% dem Sequenzabschnitt 23-59 des humanen Hi-stons H4 (Molmasse 11 282 Da) entspricht.
- 15 5. Therapeutikum nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß das Rezeptorprotein zusätzlich zu dem H4-Se-quenzabschnitt zwei weitere Peptidsequenzen enthält, welche mit hoher Homologie Sequenzabschnitte von huma-nem H2B (Molmasse 13 774 Da) und humanem H3 (Molmasse 15 324 Da) entsprechen.
- 20 6. Therapeutikum nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Rezeptorprotein core-Histone oder core-Histon-ähnliche Polypeptide in nucleosomartigen oder nukleosom-ähnlichen Aggregaten enthält.
- 25 7. Therapeutikum nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es wenigstens ein reines Histon oder dessen wirksamen Sequenzabschnitt enthält, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus einem Histon H1, den reinen H1-Subtypen, H2A, H2B, H2A:H2B-Dinner, H3 und H4.
- 30 8. Therapeutikum nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß es reines Histon H1 oder einen wirksamen Se-quenzabschnitt hiervon enthält.
- 35 9. Therapeutikum nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß der wirksame Histon H1-Abschnitt die globuläre H1-Domäne in Verbindung mit der vollständigen N-terminalen Domäne oder einem Sequenzabschnitt hiervon ist.
- 40 10. Therapeutikum nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß der wirksame Histon H1-Abschnitt die globu-läre H1-Domäne in Verbindung mit der C-terminalen Domäne oder einem Sequenzteilabschnitt hiervon ist.
- 45 11. Therapeutikum nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß der wirksame Histon H1-Abschnitt die globu-läre H1-Domäne in Verbindung mit der vollständigen N-terminalen Domäne und einem Sequenzteilabschnitt der C-terminalen Domäne ist.
- 50 12. Therapeutikum nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß der wirksame H1-Sequenzabschnitt die globuläre H1-Domäne sowohl in Verbindung mit einem Sequenzteilabschnitt der C-terminalen Domäne als auch in Verbindung mit einem Sequenzteilabschnitt der N-terminalen Domäne ist.
- 55 13. Therapeutikum nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß es wenigstens einen humanen H1-Subtyp oder dessen wirksamen Sequenzabschnitt enthält, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus H1.0, H1.1, H1.2, H1.3, H1.4, H1.
- 60 14. Therapeutikum nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß der wirksame H1.0-Abschnitt die globuläre Domäne in Verbindung mit der vollständigen N-terminalen Domäne oder Teilsequenzen hiervon mindestens ab der 11., insbesondere ab der 16. bis 20. Aminosäure und/oder in Verbindung mit der vollständigen C-terminalen Do-mäne oder Teilsequenzen hiervon mindestens bis zur 99. bis 119. Aminosäure ist.
- 65 15. Therapeutikum nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß der wirksame H1.1-Abschnitt die globuläre Domäne in Verbindung mit der vollständigen N-terminalen Domäne oder Teilsequenzen hiervon mindestens ab der 16., insbesondere ab der 20. bis 26. Aminosäure und/oder in Verbindung mit der vollständigen C-terminalen Do-mäne oder Teilsequenzen hiervon mindestens bis zur 118-138 Aminosäure ist.
- 70 16. Therapeutikum nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß der wirksame H1.2-Abschnitt die globuläre Domäne in Verbindung mit der vollständigen N-terminalen Domäne oder Teilsequenzen hiervon mindestens ab der 16., insbesondere ab der 20. bis 26. Aminosäure und/oder in Verbindung mit der vollständigen C-terminalen Do-mäne oder Teilsequenzen hiervon mindestens bis zur 105. bis 125. Aminosäure ist.
- 75 17. Therapeutikum nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß der wirksame H1.3-Abschnitt die globuläre Domäne in Verbindung mit der vollständigen N-terminalen Domäne oder Teilsequenzen hiervon mindestens ab der 16., insbesondere ab der 20. bis 26. Aminosäure und/oder in Verbindung mit der vollständigen C-terminalen Do-mäne oder Teilsequenzen hiervon mindestens bis zur 117. bis 137. Aminosäure ist.
- 80 18. Therapeutikum nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß der wirksame H1.4-Abschnitt die globuläre Domäne in Verbindung mit der vollständigen N-terminalen Domäne oder Teilsequenzen hiervon mindestens ab der 16., insbesondere ab der 20. bis 26. Aminosäure und/oder in Verbindung mit der vollständigen C-terminalen Do-mäne oder Teilsequenzen hiervon mindestens bis zur 116. bis 136. Aminosäure ist.
- 85 19. Therapeutikum nach einem oder mehreren der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es we-nigstens ein Histon und/oder seinen wirksamen Sequenzabschnitten enthält, das bzw. die die Fähigkeiten besitzen, die im Rezeptorprotein aggregierten Polypeptide zu größeren Überstrukturen zu vernetzen.
- 90 20. Therapeutikum nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß einzelne Aminosäuren der Histone oder deren Teile im Therapeutikum durch solche mit gleichen oder ähnlichen physikalischen Eigen-schaften ersetzt sind.
- 95 21. Therapeutikum nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, daß in der Sequenz des humanen H1.0. die Mu-tationen K 19 R und K 20 R eingeführt sind, sowie weitere K-R Mutationen enthalten sind, welche den Unterschieden zwischen Histon H5 und H1 bei Vögeln entsprechen.
22. Therapeutikum nach einem der vorstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es dem Histon H5 aus Hühnererythrozyten entspricht oder seinem wirksamen Abschnitt, dessen C-terminaler Sequenzabschnitt die Posi-tionen 98-131 oder die Positionen 98-151 umfaßt.
23. Therapeutikum nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß der C-terminale Sequenzteilabschnitt im we-sentlichen durch den Sequenzabschnitt 98 bis 131 oder durch den Sequenzabschnitt 98 bis 151 bestimmt ist.
24. Verfahren zur Diagnose von individuellen Krebszellen mit Core-Histone oder core-ähnliche Histone und/oder

DE 197 15 149 A 1

• deren Teile enthaltenden Rezeptorproteinen in den Membranen solcher Krebszellen unter Verwendung von Histonen, insbesondere Histon H1 oder deren Teilen, die an dem Rezeptor binden.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

- Leerseite -